

مقایسه اثر عصاره اتانولی سیاه دانه و نیتاتین بر روی کاندیدا آلبیکانس در شرایط آزمایشگاهی

دکتر آرمین دیزجانفردزنجانی^۱، دکتر هانیه جدیدی^۲، دکتر پیوند معینی^۳، دکتر سپیده مجذوبی^{۴*}

۱-دندانپزشک عمومی

۲-دستیار تخصصی کودکان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران

۳- متخصص دندانپزشکی کودکان

۴- استادیار گروه کودکان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران

پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۱/۲۰

اصلاح نهایی: ۱۴۰۲/۱۲/۱۱

وصول مقاله: ۱۴۰۲/۹/۱۱

Comparison of the effect of *Nigella sativa* ethanol extract and Nystatin on *Candida albicans* in vitro

Armin dizjanfardzanjani¹, Hanieh Jadidi², Payvand moeini³, Sepideh Majzoubi^{4*}

1- Dentist, School of Dentistry, Tehran Islamic Azad University of Medical Sciences, Tehran, Iran;

2- Post Gruated Student, Pediatric Dentistry Dept, School of Dentistry, Tehran Islamic Azad University of Medical Sciences, Tehran, Iran;

3- Associate Professor, Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry, Tehran Islamic Azad University of Medical Sciences, Tehran, Iran;

4- Associate Professor, Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Tehran Islamic Azad University of Medical Sciences, Tehran, Iran;

Received: Dec 2024

Accepted: April 2024

Abstract

Background and Aims: Oral infections caused by *Candida* species are increasing worldwide. One of the common topical treatments related to oral candidiasis is nystatin, which has anti-fungal and antimicrobial activity. Common anti-fungal treatments have many side effects and cause drug resistance and repeated recurrence of *Candida* infection. The use of plant extracts can be a suitable alternative to synthetic drugs such as nystatin. The aim of this study was to compare the anti-fungal effect of *Nigella Sativa* with nystatin on *Candida albicans*.

Materials and Methods: An experimental study was conducted by referring to the Scientific and Industrial Research Organization of Iran and the standard strain of *Candida albicans* with PTCC5027 was provided. Ethanol soaking method was used to obtain the *Nigella sativa* ethanolic extract. Fungal suspension with 0.5 McFarland concentration was cultured in a broth medium. To investigate the anti-candida properties of the *Nigella sativa* Linn ethanolic extract, Disk diffusion technique was done in a Potato dextrose agar by uniformly inoculating the fungal suspension on the culture medium of potato dextrose agar then using a 100 µl micropipette, the *Nigella sativa* Linn extract with a concentration of 100 mg/ml and Nystatin in a dose of 0.06 mg was poured on a sterile blank disk and put in the plates and, subsequently the growth inhibition zone of the extract was measured. By diluting the extract and nystatin to 0.09, 0.19, 0.39, 0.78, 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25.50 the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum fungicidal concentration (MFC) were obtained using both Microdilution broth and Macrodilution broth. Each experiment was repeated 3 times and the obtained data were statistically analyzed using SPSS ver:25 software and t-test exam.

Results: The length of the inhibition zone measured from the *Nigella sativa* Linn extract was 19.5mm respectively and the length of the inhibition zone obtained by Nystatin was 24.5 mm respectively. Studying the results of the dilution test in both techniques concluded from the *Nigella sativa* Linn extract showed that the *Nigella sativa* Linn ethanolic extract at a concentration of 1.56 mg /ml has the least Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and at a concentration of 3.12 mg/ml it has the lowest Minimum Fungicidal Concentration (MFC). Statistical analysis (T-test) showed that the difference in length of the *Nigella sativa* Linn inhibition zone with Nystatin ($P < 0.05$) was significant.

Conclusion: According to our findings, it seems that the *Nigella sativa* Linn ethanolic extract is quite effective on the growth of *Candida albicans* and has an antifungal effect. However, the antifungal effect of Nystatin is significantly higher than the *Nigella sativa* Linn ethanolic extract.

Key words: *Candida albicans*, *Nigella sativa* Linn, Nystatin

*Corresponding Author: majzoubi@gmail.com

J Res Dent Sci. 2024; 21(2):133-141

خلاصه:

سابقه و هدف: عفونت های دهانی ناشی از گونه های کاندیدا به طور وسیع در سراسر جهان در حال افزایش است. یکی از درمان های موضعی رایج مربوط به کاندیدیازیس دهانی، داروی نیستاتین می باشد که دارای فعالیت ضد قارچی و ضد میکروبی است. درمان های ضد قارچی معمول دارای اثرات جانبی متعددی بوده و مقاومت دارویی و عود مکرر عفونت کاندیدیایی را موجب می شوند. استفاده از عصاره های گیاهی می تواند جایگزین مناسبی برای داروهای سنتتیک مانند نیستاتین باشند. هدف این مطالعه، مقایسه آزمایشگاهی اثر ضدقارچی عصاره سیاه دانه با نیستاتین بر کاندیدا آلبیکنس بود.

مواد و روش ها: این بررسی به روش تجربی-آزمایشگاهی انجام شد، سویه استاندارد قارچ (PTCC5027) از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. عصاره اتانولی سیاه دانه به روش خیساندن بدست آمد. به منظور ارزیابی خواص ضد قارچی از روش دیسک گذاری در محیط کشت مولر هینتون آگار استفاده شد. عصاره با رقت های ۰/۰۹، ۰/۱۹، ۰/۳۹، ۰/۷۸، ۱/۵۶، ۳/۱۲، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵/۵۰ بر روی کاندیدا اثر داده شد و حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی قارچی (MFC) و Minimum Fungicidal Concentration با استفاده از تکنیک Microdilution broth و Macrodilution broth محاسبه گردید. هر آزمایش ۳ بار تکرار گردید و داده های بدست آمده با نرم افزار SPSS نسخه ۲۵ و T-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها: میانگین قطر عدم رشد ناشی از عصاره اتانولی سیاه دانه بر روی قارچ، ۱۹/۵ میلی متر گزارش شد. میانگین قطر هاله عدم رشد نیستاتین بر روی قارچ، ۲۴/۵ میلی متر گزارش شد. MIC و MFC عصاره اتانولی در هر دو روش Microdilution broth و Macrodilution broth بر روی قارچ ۱/۵۶ و ۳/۱۲ صدم میلی گرم/میلی لیتر بدست آمد.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج حاصل از تحقیق حاضر، عصاره اتانولی گیاه سیاه دانه اثر مهارتی مثبتی بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس دارد ولی اثر ضدقارچی نیستاتین نسبت به عصاره اتانولی سیاه دانه به طور معناداری بیشتر می باشد.

کلید واژه ها: قارچ کاندیدا آلبیکنس، عصاره سیاه دانه، نیستاتین

مقدمه:

کاندیدیازیس دهانی شایع ترین عفونت فرصت طلب مخاط دهان است که به دنبال رشد بیش از حد قارچ کاندیدا در حفره دهان ایجاد می شود^(۱). بهداشت دهان و دندان ضعیف، خشکی دهان، پروتزهای متحرک، عفونت ویروس نقص ایمنی انسانی ۱ و رادیوتراپی سر و گردن، احتمال ابتلا به کاندیدیازیس دهانی را افزایش می دهند^(۲). در کودکان استفاده از پلاک های ارتودنسی و مصرف آنتی بیوتیک های وسیع الطیف و تغییر فلور میکروبی دهان می توانند سبب بوجود آمدن کاندیدا شوند. همچنین در حفره دهان کودکان مبتلا به پوسیدگی در مقایسه با کودکان بدون پوسیدگی، گونه های کاندیدا به ویژه کاندیدا آلبیکنز اغلب در سطوح بالاتری شناسایی شده است^(۱). پیش بینی شمار ناقلین دهانی گونه های کاندیدا در افراد سالم امری دشوار است، اما تحقیقات مختلف آماری بین ۱۷ تا ۷۵ درصد

شایع ترین داروهای ضدقارچی پلی آن و آزول ها هستند. پلی آن ها مانند نیستاتین و آمفوترسین بی، اولین گزینه های درمانی برای کاندیدیازیس دهانی اولیه هستند^(۳). استفاده از نیستاتین به دلیل جذب ناچیز خوراکی و همچنین سمیت سیستمیک مربوط به تزریق داخل وریدی به مصرف موضعی محدود می شود^(۵). مکانیسم اثر نیستاتین به این صورت است که در تکثیر DNA قارچی تداخل ایجاد می کند و با اتصال به استرول های موجود در غشاء و افزایش نفوذپذیری باعث خروج محتویات ضروری و مواد غذایی از داخل سلول می شود^(۶). همچنین نیستاتین می تواند مانع از چسبندگی قارچ شود^(۴). طعم تلخ نیستاتین سبب عدم پذیرش آن توسط کودکان شده است و تغییر طعم تلخ آن با قند و مواد طعم دهنده خود ممکن است باعث پوسیدگی شود^(۷) داروهای گیاهی به عنوان درمان جایگزین با عوارض کمتر و خواص متعدد می توانند مورد توجه قرار گیرند که از جمله این گیاهان، سیاه دانه است

گزارش نموده اند^(۳)

عصاره گیری

در بررسی حاضر به منظور تهیه عصاره اتانولی سیاه دانه از روش خیساندن در اتانول استفاده گردید، دانه ها با آب در دمای اتاق شستشو داده شده و پس از خشک شدن در جای خنک و تاریک توسط دستگاه آسیاب برقی پارس خزر آسیاب گردید. در ادامه ۲۰ گرم از پودر خشک شده گیاه، وزن شده و به آن ۲۰۰ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه شده و به مدت پنج روز در دمای اتاق خیسانده شدند. سپس عصاره حاصل، توسط فیلتر کاغذی واتمن شماره یک، صاف گردید. محلول بدست آمده در دستگاه تقطیر MILLIPORE ریخته شد تا حلال (اتانول) تبخیر شود؛ سپس عصاره زیر اشعه UV با طول موج بین ۲۸۰ تا ۴۰۰ نانومتر به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد تا استریل و عاری از میکروب گردد و در ظرف دردار و تیره رنگ ریخته و دور از نور در یخچال در دمای ۵ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

برای تهیه استوک اولیه، غلظت ۱ گرم از عصاره بدست آمده در ۱۰ میلی لیتر حلال دی متیل سولف اکساید ۲ درصد (Dimethyl Sulfoxide (DMSO حل شده و با غلظت اولیه ۱۰۰ میلی گرم/میلی لیتر تست های ضد قارچی انجام شد (۱۲-۱۳)

بررسی قطر هاله مهارى

برای تهیه سوسپانسیون قارچی از غلظت نیم مک فارلند استفاده شد. به این صورت که ۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی در لوله آزمایش ریخته شد سپس یک کلنی از کاندیدا با لوپ برداشته و به لوله حاوی سرم فیزیولوژی انتقال داده شد و کاملاً کلنی در داخل سرم حل نموده شد. کدورت آن با استاندارد ۰.۵ مک فارلند (۵/۱ × ۱۰۸ CFU/ml) مقایسه شد (۱۶). جهت بررسی خواص ضد باکتریایی عصاره اتانولی سیاه دانه، از تکنیک دیسک گذاری درون PDA استفاده شد (۱۷). برای تهیه این محیط کشت ابتدا ۳۹ گرم از پودر Agar Dextrose + ۱۵dextrose + ۲۰potato گرم عصاره + ۲۰potato گرم

که تاریخچه ی غنی طب سنتی داروهای گیاهی به عنوان درمان جایگزین با عوارض کمتر و خواص متعدد می توانند مورد توجه قرار گیرند که از جمله این گیاهان، سیاه دانه است که تاریخچه ی غنی طب سنتی دارد، سیاه دانه (Nigella sativa) گیاهی گلدار و بومی اروپای شرقی و کشورهای بلغارستان، قبرس، رومانی و غرب آسیا و کشورهای ایران، ترکیه و عراق است اما امروزه در مناطق دیگری از اروپا و آسیا نیز می روید (۸-۱۰). moquinonThy یکی از مؤثرترین روغن های تشکیل دهنده سیاه دانه است که خواص آنتی میکروبیال بر روی باکتری ها، ویروس ها، انگل ها و قارچ ها دارد (۱۱).

طبق نتایج به دست آمده از مطالعات قبلی در جلوگیری از رشد قارچ در دهان بیماران بستری در بیمارستان (۱۲) و مطالعه ی بررسی جایگزینی عصاره سیاه دانه با آنتی بیوتیک ها (۱۳) و اثرات مثبت عصاره سیاه دانه در جلوگیری از رشد قارچ بر پروتز های دندانی (۱۴) اثبات شده است و بر اساس بررسی ها از منابع اطلاعاتی موجود، مطالعات محدودی در زمینه ی خواص ضد قارچی سیاه دانه ایرانی و نقش عصاره سیاه دانه بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس صورت گرفته است لذا با توجه به اهمیت موضوع و خلاء اطلاعاتی موجود این تحقیق انجام شد.

مواد و روش ها:

این تحقیق به روش تجربی و آزمایشگاهی با کد اخلاق REC.DENTAL.IAU.IR.۱۳۹۹.۱۵۴ انجام گرفت.

در این مطالعه با مراجعه به سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، سویه استاندارد قارچ کاندیدا آلبیکنز با PTCC5027 تهیه شد. دانه های سیاه دانه از باغ گیاه شناسی دارویی فیروزه تهران در اواخر فصل بهار خریداری شد و با استفاده از کتب مرجع علمی مورد تایید و شناسایی قرار گرفت.

گرم آگار) را به طور جداگانه در ۲ ارلن ریخته و سپس با ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل حل نموده و روی شعله قرار داده تا کاملاً محیط های کشت در آب حل گردد سپس در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد با فشار ۱/۲ اتمسفر استریل گردید^(۱۸). در ادامه محیط ساخته شده در پلیت های استریل توزیع شد و پس از سرد شدن ابتدا از طریق یک سوآپ استریل مقداری از سوسپانسیون قارچ معادل نیم مک فارلند را روی محیط کشت مولر هینتون آگار به صورت یکنواخت تلقیح نموده و سپس کشت چمنی انجام شد. در ادامه بر روی دیسک های بلانک استریل (MAST Co.UK) با قطر ۶/۴ میلی لیتر با استفاده از سمپلر ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره سیاه دانه با غلظت ۱۰۰ میلی گرم/ میلی لیتر و برای گروه نیستاتین میزان ۱۰۰/۰۰۰ (واحد سیگما) در دوز ۰/۰۶ میلی گرم ریخته شد و روی سطح پلیت قرار داده شد. برای کنترل منفی از بلانک دیسک فاقد هرگونه ماده استفاده شد. سپس این پلیت ها با مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند^(۱۶). در نهایت با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد و مقایسه آن با گروه شاهد پتانسیل ضد قارچی عصاره اتانولی سیاه دانه سنجیده شد. برای اطمینان از پاسخ، آزمایش تحت شرایط آسپتیک انجام شد و سه بار تکرار گردید^(۱۸).

جهت ارزیابی حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی قارچ (MFC) و دقت در ارزیابی از هر دو تکنیک Microdilution broth و Macrodilution broth استفاده شد. در این دو آزمایش از محیط کشت PDB^۱ استفاده شد. برای تهیه این محیط کشت ابتدا ۲۴ گرم پودر Potato dextrose broth (۴ گرم عصاره potato + ۲۰ گرم dextrose) را در ارلن ریخته، سپس با ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل نموده و روی شعله قرار داده تا کاملاً پودر محیط کشت در آب حل شود. سپس در اتوکلاو

به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱/۲ اتمسفر استریل گردید.

کنترل مثبت و منفی در هر دو آزمایش منظور شد. کنترل مثبت حاوی محیط کشت مایع PDB و سوش کاندیدا آلبیکنس بود که کدر شد و کنترل منفی حاوی محیط کشت مایع PDB بود که شفاف شد سپس پلیت میکروتیتراسیون ۹۶ خانه ای و لوله های ماکروتیوب به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد درون انکوباتور گذاشته شد. بعد از آن نتیجه بررسی شد که در چه غلظتی کاندیدای آلبیکنس نتوانست رشد کند. این کار ابتدا توسط چشم غیر مسلح و بررسی کدورت مایع انجام شد، به این صورت که خانه یا لوله ای که دارای کدورت بود، کاندیدا در آن خانه رشد داشت و خانه یا لوله ای که شفاف بود، در آن ممانعت از رشد صورت گرفته بود. کمترین غلظتی که در آن ممانعت از رشد داشتیم، MIC بود^(۱۹، ۲۰).

بعد از برداشتن لوله ها از انکوباتور، محتوای هر لوله را در محیط کشت PDA آگار با لوپ، کشت خطی داده شد و پلیت ها در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند.

با تهیه پلیت ها متوجه شدیم که در کدام یک از آنها کلونی کاندیدای آلبیکنس وجود داشته اما از رشد آن ممانعت به عمل آمده است و در کدام لوله هیچ کلونی ای رشد نکرده است. پلیتی با کمترین غلظت که میزان رشد کاندیدا آلبیکنس را به صورت محسوسی محدود کرده است، MIC و پلیتی با کمترین غلظت که کاندیدای آلبیکنس در آن رشد نداشت به عنوان MFC لحاظ گردید^(۲۱). برای اطمینان از پاسخ، آزمایش ها

تحت شرایط حفاظت شده و آسپتیک انجام و ۳ بار تکرار شد. در این تحقیق از نرم افزار SPSS ورژن ۲۵ برای تجزیه و تحلیل آماری استفاده شد و روش های آماری استفاده شده عبارت بودند از: t-test و آزمون آنالیز واریانس و سطح معناداری آزمون ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها:

دیسک گذاری جهت ارزیابی هاله مهارى رشد در محیط کشت استاندارد و اختصاصی PDA سه بار انجام شد. قطر هاله عدم رشد بر حسب تکرارها در جدول ۱ نشان داده شده است و هاله مشاهده شده نشان دهنده عدم رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس در برابر عصاره اتانولی سیاه دانه و نیستاتین بود.

جدول ۱- قطر هاله های عدم رشد ناشی از عصاره اتانولی سیاه دانه در مقایسه با نیستاتین بر حسب میلی متر

هاله عدم رشد میلی متر برای <i>Candida albicans</i>	سیاه دانه	نیستاتین
تکرار ۱	۱۹	۲۴
تکرار ۲	۲۰	۲۵
تکرار ۳	۲۱	۲۴/۵

نتایج حاصله از میانگین هاله عدم رشد اطراف دیسک نیستاتین با دوز ۶۰ میکروگرم، 5 ± 24 بود و میانگین هاله عدم رشد اطراف دیسک عصاره اتانولی سیاه دانه با دوز ۱۰۰ میلی گرم/میلی لیتر، 1 ± 20 بود که در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲- مقایسه میانگین قطر هاله مهارى عصاره اتانولی سیاه دانه در مقایسه با نیستاتین در کاندیدا آلبیکنس

قطر هاله ی عدم رشد گروه ها	حداقل	حداکثر	میانگین $\pm$ انحراف	P value
عصاره سیاه دانه با غلظت mg/ml ۱۰۰	۱۹	۲۱	20 ± 1	۰/۰۰۲
نیستاتین با دوز ۶۰ میکروگرم	۲۴	۲۵	24.5 ± 0.5	۰/۰۰۲

آزمون T-test نشان داد که تفاوت میزان هاله عدم رشد در

این دو گروه معنادار است. ($P=0.002$)

در این تحقیق ۳ بار MIC عصاره اتانولی سیاه دانه و نیستاتین به هر دو روش Macrodilution broth و Microdilution broth در رقت های ۰/۰۹، ۰/۱۹، ۰/۳۹، ۰/۷۸، ۰/۱۵۶، ۰/۳۱۲، ۰/۶۲۵، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵۰ بررسی شد و پیرو آن ۳ بار جهت ارزیابی حداقل اثر کشندگی، از هر یک از لوله های Macro tube بر روی محیط اختصاصی قارچ PDA کشت دادیم و رشد و عدم رشد کاندیدا آلبیکنس در غلظت های متفاوت عصاره اتانولی سیاه دانه و نیستاتین را در محیط کشت جامد بررسی کردیم. MIC و MFC بر حسب گروه ها در جدول ۳ آمده است و در هر دو گروه، در هر سه تکرار نتایج یکسان بود.

با انجام این آزمایشات به این نتیجه رسیدیم که عصاره اتانولی سیاه دانه بر مهار رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس موثر است؛ با این وجود تاثیر ضد قارچی نیستاتین در مقایسه با عصاره اتانولی سیاه دانه بیشتر است.

جدول ۳- MIC و MFC قارچ کاندیدا آلبیکنس با عصاره سیاه دانه و نیستاتین

قارچ کاندیدا آلبیکنس	MIC	MFC
عصاره سیاه دانه	۱/۵۶ (mg/ml)	۳/۱۲ (mg/ml)
نیستاتین	۳/۷۵ (ml/gμ)	۷/۵ (ml/gμ)

بحث:

با وجود تاثیر بیشتر اثر ضد قارچی نیستاتین در مقایسه با عصاره اتانولی سیاه دانه، در بررسی انجام شده به این نتیجه مهم دست یافتیم که عصاره اتانولی سیاه دانه بر مهار رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس موثر است. این بررسی به صورت آزمایشگاهی اثر ضد قارچی غلظت های مختلف عصاره اتانولی گیاه سیاه دانه ایرانی در مقایسه با نیستاتین بر قارچ کاندیدا آلبیکنس را بررسی کرد.

در سال ۲۰۲۲ مطالعه توسط Zouirech جهت بررسی اثرات آنتی اکسیدانی، ضد باکتریایی و ضد قارچی سیاه دانه در برابر میکروارگانیزم های بیماری زا بالینی مقاوم به دارو انجام شد^(۲۰)

نتایج به دست آمده نشان داد عصاره روغنی سیاه دانه اثر ضد قارچی قابل توجهی با قطر هاله مهار ۴۲ میلی متر و حداقل غلظت مهاری ۰/۶۷ (میکروگرم/میلی لیتر) داشت. در نهایت آنها به این نتیجه دست یافتند که برای به حداقل رساندن رشد باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک، عصاره روغنی سیاه دانه می تواند به عنوان یک جایگزین طبیعی برای آنتی بیوتیک های مصنوعی و آنتی اکسیدان ها برای درمان رادیکال های آزاد دخیل در واکنش های التهابی مرتبط با عفونت میکروبی باشد.^(۲۰)

در مطالعه مروری که در سال ۲۰۲۱ توسط Dalli و همکاران صورت گرفت، نتایج نشان داده شد که با استخراج عصاره متانولی سیاه دانه و استفاده از روش Agar difussion رشد ۶۶/۶۷ درصد از قارچ های آزمایش شده مهار شد، در حالی که ۳۳/۳ درصد باقی مانده مقاوم بودند.

همچنین آنها نشان دادند با استخراج عصاره اتانولی سیاه دانه و استفاده از روش Microdilution حداقل غلظت مهاری تیموکینون برای جلوگیری از رشد کاندیدا آلبیکنز برابر ۲۵ (میکروگرم/میلی لیتر) می باشد.^(۲۱)

در سال ۲۰۱۹ بررسی توسط Ariamanesh و همکاران با هدف تعیین اثربخشی عصاره الکلی سیاهدانه بر مهار کلونیزاسیون کاندیدا آلبیکنس و تشکیل پلاک بر روی صفحات دندان مصنوعی اکریلیک به صورت آزمایشگاهی انجام شد.^(۲۲) آنها به این نتیجه دست یافتند که میانگین تعداد کلنی های به دست آمده در غلظت های ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸ و ۲۰۰ میلی گرم در میلی لیتر سیاه دانه به ترتیب ۱۲۲/۶، ۱۱۷/۸، ۷۳/۴ و ۱۴/۴ کلنی در مقایسه با آب مقطر (۱۴۱/۶ کلنی) و نیستاتین (صفر کلنی) بود که اختلاف معنی داری را نشان دادند.

بدین منظور از قطرهاله عدم رشد به روش دیسک دیفیوژن و سپس حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی قارچ (MFC) به روش Broth Dilution استفاده شد. پس از انجام آزمایشات میانگین قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره اتانولی سیاه دانه و نیستاتین بر روی قارچ به ترتیب ۱۹/۵ میلی متر و ۲۴/۵ میلی متر اندازه گیری شد.

MIC و MFC عصاره اتانولی در هر دو روش Microdilution broth و Macrodilution broth بر روی قارچ ۱/۵۶ و ۳/۱۲ (میلی گرم/میلی لیتر) بدست آمد.

در مطالعات انجام شده که هم راستا با بررسی حال حاضر نیز می باشد، اثر مهار کنندگی تیموکینون در غلظت های مختلف نشان داده شده است. در سال ۲۰۲۳ توسط Nouri و همکاران مطالعه ای با هدف ارزیابی فعالیت ضد قارچی تیموکینون علیه *C. glabrata* در بیماران بستری در بخش مراقبت های ویژه انجام شد.^(۱۹) با توجه به اثر بخشی تیموکینون بر بیان ژن های *C. glabrata* EPA ۶ و EPA ۷ (به ترتیب مربوط به چسبندگی و توسعه بیوفیلیم) و بررسی حساسیت دارویی ضد قارچی علیه فلوکونازول، ایتراکونازول، آمفوتریسین بی، به این نتایج دست یافتند که اکثر آنها به فلوکونازول مقاوم بودند (۷۲/۵٪)، در حالی که ۱۲/۵٪ به ایتراکونازول و ۵٪ به آمفوتریسین بی، مقاوم بودند.

حداقل غلظت مهاری تیموکینون برابر ۵۰ (میکروگرم/میلی لیتر) بود. نتیجه بسیار مهم این بود که تیموکینون به طور قابل توجهی تشکیل بیوفیلیم *C. glabrata* را مهار کرد و بیان ژن EPA ۶ در غلظت ۵۰ میکروگرم/میلی لیتر تیموکینون به طور قابل توجهی کاهش یافت.

به نظر می رسد تیموکینون دارای اثر ضد قارچی و آنتی بیوفیلیم بر *C. glabrata* است که نشان می دهد این متابولیت ثانویه گیاهی یک عامل امیدوارکننده برای غلبه بر عفونت های کاندیدا، به ویژه کاندیدایزیس دهان است.^(۱۹)

نتیجه گیری:

با در نظر گرفتن نتایج بدست آمده در بررسی حاضر عصاره اتانولی گیاه سیاه دانه ایرانی اثر مهاری مثبتی بر قارچ کاندیدا آلبیکنس از خود نشان داد. اگرچه عصاره ی گیاهی معرفی شده در این پژوهش در مقایسه با ترکیبات شیمیایی نیستاتین فعالیت ضد قارچی محدودتری از خود نشان داده است، اما با در نظر گرفتن عوارض جانبی ناشی از استفاده نیستاتین، می توان استفاده از این عصاره های گیاهی را توصیه نمود، و یا ممکن است استفاده از این عصاره ی گیاهی در کنار نیستاتین در کاهش غلظت، مدت استفاده و یا عوارض جانبی آن توصیه نمود.

مشکلات و محدودیت ها

این مطالعه در شرایط invitro انجام گرفت و سوش کاندیدای استفاده شده نمونه استاندارد و آزمایشگاهی بوده است. بنابراین توصیه می شود که اثر ضدقارچی عصاره اتانولی سیاه دانه به صورت کلینیکی نیز در آینده ارزیابی شود.

توصیه ها و پیشنهادات

با اثبات اثر بخش بودن عصاره اتانولی سیاه دانه بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس این امیدواری ایجاد شد که در آینده بتوان با خالص سازی ماده موثر گیاه سیاه دانه (تیموکینون) و انجام تحقیقات بیشتر به ترکیبی با اثرات ضد قارچی قابل قبول و عوارض جانبی کم برای درمان پوسیدگی های دندانی دست یافت. از این رو در نظر گرفتن استفاده از این عصاره های گیاهی در محصولاتمانند دهان شویه ها، خمیر دندان ها، آدامس ها و... پیشنهاد می شود.

تقدیر و تشکر

از همه کسانی که در روند انجام این تحقیق به ما یاری رساندند سپاسگزاریم.

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله هیچگونه تضاد منافی ندارند

بنابراین می توان اینگونه نتیجه گرفت که عصاره سیاهدانه در غلظت مشخصی قادر به پاکسازی پروتزهای دندانی است اما در مقایسه با نیستاتین ضعیف تر است.^(۲۲)

همچنین با توجه به مطالعات گذشته و این مطالعه نمی توان به صورت دقیق غلظت سیاه دانه استفاده شده جهت عدم رشد کاندیدا را مشخص کرد و بهتر است در مطالعات بعدی به صورت مروری حداقل و حداکثر غلظتی برای عصاره سیاه دانه مشخص گردد تا بتوان در بالین تجویز گردد. چنانکه در بررسی های ذیل و کنونی غلظت های مورد استفاده متفاوت هستند.

در مطالعه ای Darmawan و همکاران نشان دادند ادامه حیات قارچ کاندیدا آلبیکنس با قرار گرفتن در معرض افزایش غلظت سیاه دانه به تدریج کاهش می یابد. این موضوع موید این است که غلظت عصاره سیاه دانه با زندهمانی قارچ کاندیدا آلبیکنس همبستگی معکوس دارد.^(۲۳)

در مطالعه ی Ummasalma و همکاران به بررسی اثر عصاره اتانولی سیاه دانه به روش Agar well diffusion بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس پرداختند. در این بررسی نشان داده شد عصاره اتانولی سیاه دانه با غلظت ۶۰ میلی گرم/میلی لیتر بر قارچ کاندیدا اثر مهاری دارد و قطر هاله عدم رشدی ۱۲ میلی متر ثبت شد.^(۲۴)

در بررسی دیگر که در سال ۲۰۱۴ انجام شد، نشان داده شد که عصاره الکلی سیاه دانه در ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر با قطر هاله عدم رشد ۳/۲۰ میلی متر بیشترین فعالیت ضد قارچی را از خود نشان می دهد، همچنین MIC در این تحقیق ۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر گزارش شد.^(۱۷)

در بررسی دیگری که توسط Siddiquie در سال ۲۰۱۳ صورت گرفت، اثر برخی گیاهان دارویی از جمله سیاه دانه علیه پاتوژن انسانی سالمونلا و قارچ کاندیدا آلبیکنس با روش Agar well diffusion بررسی شد، نتایج نشان دادند که غلظت ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر با قطر هاله مهاری ۲۰ میلی متر بیشترین اثر مهارکنندگی را بر هر دو عامل پاتوژن دارد.^(۲۵)

References:

1. Aljaffary M, Jang H, Alomeir N, Zeng Y, Alkhars N, Vasani S, et al. Effects of Nystatin oral rinse on oral Candida species and Streptococcus mutans among healthy adults. Clin Oral Investig. 2023;27(7):3557-68.
2. Kessler SQS, Lang PM, Dal-Pizzol TS, Montagner F. Resistance profiles to antifungal agents in Candida albicans isolated from human oral cavities: systematic review and meta-analysis. Clin Oral Investig. 2022;26(11):6479-89.
3. Movaghari Pour A, Sheikh Fathollahi M, Pour Khosravani M. Comparison of Antifungal Effect of Achillea Millefolium Extract with Miconazole 2% on Candida Albicans: An In Vitro Study. Journal of Mashhad Dental School. 2016;40(2):149-58.
4. Alajbeg I, Challacombe SJ, Holmstrup P, Jontell M. Red and White Lesions of the Oral Mucosa. Burket's Oral Medicine 2021. p. 85-138.
5. Baldino MEL, Medina-Silva R, Sumiensi J, Figueiredo MA, Salum FG, Cherubini K. Nystatin effect on chlorhexidine efficacy against Streptococcus mutans as planktonic cells and mixed biofilm with Candida albicans. Clin Oral Investig. 2022;26(1):633-42.
6. Shafaroudi AM, Gorji NE, Nasiri P, Javidnia J, Saravi ME. Antifungal Properties of Zataria multiflora on Candida species: A Systematic Review. J Evid Based Integr Med. 2022;27:2515690x221132272.
7. Zani R, Basharat S, khursheed T, Ali Shah Z, Gulzar Z, Shaheer M, Fatima S. Determination of Proximate Composition of Nigella sativa L. Seeds and its Effective Role in Improving Lipid Profile Among Hyperlipidaemic Women: Proximate composition of Nigella sativa L. seeds and role in improvement of lipid profile. Pakistan BioMedical Journal. 2022;5(7):74-8.
8. Randhawa MA. Black seed, Nigella sativa, deserves more attention. J Ayub Med Coll Abbottabad. 2008;20(2):1-2.
9. Heiss A, Oegg K. The oldest evidence of Nigella damascena L. (Ranunculaceae) and its possible introduction to central Europe. Vegetation History and Archaeobotany. 2005;14:562-70.
10. Forouzanfar F, Bazzaz BS, Hosseinzadeh H. Black cumin (Nigella sativa) and its constituent (thymoquinone): a review on antimicrobial effects. Iran J Basic Med Sci. 2014;17(12):929-38.
11. K. Yahya M, A. Altae R, Yahya M. Comparative evaluation of the effect of Nigella sativa extracts and nystatin as a traditional drug on Candida albicans in the primary school students in Mosul and Tikrit cities. Iraqi Journal of Pharmacy. 2013;13(2):70-8.
12. Zouirech O, Alyousef AA, El Barnossi A, El Moussaoui A, Bourhia M, Salamatullah AM, et al. Phytochemical analysis and antioxidant, antibacterial, and antifungal effects of essential oil of black caraway (Nigella sativa L.) seeds against drug-resistant clinically pathogenic microorganisms. BioMed Research International. 2022;2022(1):5218950.
13. Dalli M, Bekkouch O, Azizi S-e, Azghar A, Gseyra N, Kim B. Nigella sativa L. phytochemistry and pharmacological activities: A review (2019–2021). Biomolecules. 2021;12(1):20.
14. Ariamanesh H, Tamizi N, Yazdinezhad A, Salah S, Motamed N, Amanloo S. The effectiveness of Nigella sativa alcoholic extract on the inhibition of Candida albicans colonization and formation of plaque on acrylic denture plates: An in vitro study. Journal of Dentistry. 2019;20(3):171.
15. Nagarajan K GR. Evaluation of antimycotic activity of black cumin seed extract: In vitro study. Drug Invention Today. 2018;2:10.
16. Klevay M, Ebinger A, Diekema D, Messer S, Hollis R, Pfaller M. Disk diffusion testing using Candida sp. colonies taken directly from CHROMagar Candida medium may decrease time required to obtain results. J Clin Microbiol. 2005;43(7):3497-9.
17. Liu Y, Tortora G, Ryan ME, Lee HM, Golub LM. Potato dextrose agar antifungal susceptibility testing for yeasts and molds: evaluation of phosphate effect on antifungal activity of CMT-3. Antimicrob Agents Chemother. 2002;46(5):1455-61.
18. Fareid MA. In vitro: Evaluation of inhibitory activity of some plant extracts against oral candidiasis. NY Sci J. 2014;7(12):66-76.
19. Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. J Pharm Anal. 2016;6(2):71-9.
20. Hassan Minooeian Haghighi M, Khosravi A. The Effects of the Herbal Essences on the Two Important Species of Aspergillus. Internal Medicine Today. 2010;15(4):5-15.
21. Nouri N, Mohammadi SR, Beardsley J, Aslani P, Ghaffarifar F, Roudbary M, Rodrigues CF. Thymoquinone Antifungal Activity against Candida glabrata Oral Isolates from Patients in Intensive Care Units-An In Vitro Study. Metabolites. 2023;13(4).
22. Darmawan W FR, Redjeki S. The effect of nigella sativa (Black cumin) seed extract on candida albicans viability. International Journal of Applied Pharmaceutics. 2019 Apr 1;11:88-91. doi: 10.22159/ijap.2019.v11s1.199.
23. Umamasalma Aliyu S, Sani Liti H. Evaluation of Synergistic Activity of Black Seed Extract (Nigella sativa), Honey and Zamzam Water on Candida albicans. UMYU Journal of Microbiology Research (UJMR). 2018;3(2):116-22.
24. Siddiquie M. INHIBITORY EFFECT OF SOME INDIGENOUS MEDICINAL PLANTS AGAINST HUMAN PATHOGENIC BACTERIA SALMONELLA AND FUNGI CANDIDA ALBICANS: A PHENOMENOUS APPROACH. The Global Journal of Pharmaceutical Research. 2013;2:2204-16.